

学位授与番号	医博甲第1183号
学位授与年月日	平成7年5月31日
氏名	濱田敏夫
学位論文題目	アセチルコリン受容体合成ペプチドの立体構造修飾と抗原性に関する研究 －受容体 α サブユニット残基番号67～76領域を中心として－
論文審査委員	主査 教授 高守正治 副査 教授 東田陽博 教授 加藤 聖

内容の要旨及び審査の結果の要旨

情報を受容する諸レセプターが、分子構造まで明らかになってきた時代を迎え、照合して合成したペプチドは諸疾患の病因、病態の分子レベルからの解明に貢献しているが、結果の判断にはこの高次構造の問題をおろそかにできず、実験系でのペプチドの高次構造と、生体内での本来の高次構造の異同についての配慮が常に必要である。

重症筋無力症 (myasthenia gravis, MG) 発症の主因である抗アセチルコリン受容体 (acetylcholine receptor, AChR) 抗体の抗原決定基として、AChR α 67～76領域 (main immunogenic region, MIR) が重視されているが、この領域の合成ペプチドは十分な抗原性を示さない。本研究では、治療、診断用抗原の作製を意図し、抗原性強調のため、合成ペプチドの人工的ターン構造強調を検討し、下記の結果を得た。

1. Cysを組み込みS-S結合をとらせ、ターン構造の強調を試みたペプチド、KKCYG- α 67～76-VCT, CR- α 67～76-K ($G^{74} \rightarrow C$), CKGGLR- α 67～76-KC, KKC- α 63～77-C, KKC- α 62～77-C, KKC- α 61～77-C, また、抗原性強調に有効と報告されたアミノ酸置換、($G^{73} \rightarrow H$, $K^{76} \rightarrow A$), ($G^{73} \rightarrow R$, $K^{76} \rightarrow A$), ($K^{76} \rightarrow H$), ($K^{76} \rightarrow R$) をKKC- α 62～77-Cに応用したものを作製し、その抗原性を検討した。尚、CKGGLR- α 67～76-KCは、核磁気共鳴法によるプロトン間距離情報をもとにした立体構造解析で、合成時の意図どおりターン構造をとることを確認した。
2. 抗MIRモノクローナル抗体 (monoclonal antibody, mAb) との反応を検討した結果、 α 67～76に反応性を認めなかったが、構造修飾されたCKGGLR- α 67～76-KC, KKC- α 63～77-C, KKC- α 62～77-C, KKC- α 61～77-Cに強い反応を認めた。また、アミノ酸置換を行ったペプチドも全てに強い反応を認め、特に ($K^{76} \rightarrow H$) は置換前のものの反応を上回った。
3. 30例のMG患者血清抗体との反応を検討した結果、天然配列の α 60～80に陽性例はなかったが、構造修飾を施したペプチドに3.3%～16.7%の陽性例を認めた。

以上の結果は、合成ペプチドを用いる際の立体構造への配慮の重要性を示し、合成ペプチドの抗原性低下の克服に、立体構造修飾が有効であることを示している。

本研究は、抗AChR抗体の抗原決定基として重視されるMIRの合成ペプチドが、立体構造修飾によって抗原性を強調されうること示したものであり、治療への応用も期待され、神経免疫学に寄与する労作として評価された。